

بررسی فراوانی نسبی ژنوتیپ های مختلف vacA در هلیکوباکتریلوری جدا شده از نمونه های بیوپسی معده بیماران مبتلا به آدنوکارسینوما، زخم اثنی عشر و نرمال / گاستریت مراجعه کننده به بیمارستان الزهرا (س) شهر اصفهان به روش PCR

سید اصغر هوائی^{۱*}، رسول صالحی^۲، سید علی فاضلی^۱، حمید توکلی^۳، پرویز مهاجری^۴

۱. دانشیار گروه میکروشناسی-دانشکده پزشکی-دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

۲. دانشیار گروه سلولی ملکولی-دانشکده پزشکی-دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

۳. فوق تخصص بیماریهای گوارشی-عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

۴. استاد یار گروه میکروشناسی-دانشکده پزشکی-دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

نویسنده مسئول: دکتر سید اصغر هوائی، گروه میکروشناسی-دانشکده پزشکی-دانشگاه علوم پزشکی اصفهان. تلفن: ۰۹۱۳۳۱۳۳۵۳۹. ایمیل: havaei@med.mui.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۸/۲ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۱۱/۱۰

چکیده

مقدمه: هلیکوباکتریلوری ارگانیزم گرم منفی خمیده شکل است که در دستگاه گوارش انسان مستقر می شود و باعث بروز عوارض مختلف دستگاه گوارش از جمله زخم اثنی عشر، گاستریت و بدخیمی های معده مثل آدنوکارسینوما می شود.

یکی از فاکتورهایی که توجه متخصصین را زیاد به خود معطوف کرده است امکان ارتباط ژنهای خاصی از این باکتری یعنی ژن های vacA و cagA و iceA با علائم بالینی گوناگون می باشد. در این تحقیق فراوانی ژنوتیپهای مختلف vacA (m1 s1b1 m1s1a و m2s1a و m2s1b و m1s2 و m2s2) در سوشهای جدا شده از بیماران مبتلا به گاستریت و زخمهای اثنی عشر و آدنوکارسینوما و ارتباط آن با بیماریهای مذکور مورد بررسی قرار گرفته است.

روش ها: در مطالعه حاضر از ۱۰۰ بیمار مبتلا به بیماریهای مذکور در بخش آندوسکوپی بیمارستان الزهرا (س) اصفهان بیوپسی تهیه گردید. پس از جداسازی هلیکوباکتریلوری و تأیید آن توسط تستهای بیوشیمیایی، وجود آلل های مختلف ژن vacA توسط PCR مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: از یکصد بیمار باکتری H.pylori در شرایط میکروانروفیلیک جداسازی و با آزمایشهای بیوشیمیایی مورد تأیید قرار گرفت. از یکصد بیمار باکشت مثبت ۴۰ نفر مبتلا به گاستریت ۴۰ نفر زخم اثنی عشر ۲۰ نفر آدنوکارسینوما بودند. وجود آللهای m_sa در بیماران مذکور به ترتیب با فراوانی ۲۵٪، ۲۷/۵٪، ۳۵٪ و m_sb ۲۰٪، ۲۵٪، ۲۵٪، m_sa و ۳۰٪، ۳۰٪، ۱۰٪ و m_sb ۲۵٪، ۱۷/۵٪، ۳۰٪ و آلل S₂ نیز در هیچکدام از باکتریهای فوق مشاهده نشد.

نتیجه گیری: در این مطالعه رابطه معنی داری بین ژنوتیپهای مختلف vacA و بیماریهای مذکور دیده نشد.

واژه های کلیدی: هلیکوباکتریلوری - vacA - آدنوکارسینوما - زخم اثنی عشر - نرمال / گاستریت - PCR

خصوصیات ژنتیکی این باکتری و رابطه این خصوصیات ژنتیکی با عوارض ایجاد شده، نقطه عطفی در ارائه روشهای تشخیص و پیشگیری زخم معده و سرطان معده خواهد بود. همانطور که اشاره شد ژنوتیپ های این باکتری بر حسب موقعیت جغرافیایی متفاوت است. لذا شناخت ژنوتیپ های موجود در ایران و نیز ژنوتیپ غالب جهت حصول به این هدف لازم و ضروری است. طبق بررسی های انجام شده تاکنون در جهت تعیین ژنوتیپ های هلیکوباکتریلوری از نظر ژن vac A مطالعه ای در ایران و حتی خاورمیانه صورت نگرفته است. در حالیکه در کشورهای شرق آسیا مثل ژاپن، چین، سنگاپور و کشورهای اروپایی و آمریکایی مطالعات کاملی در این زمینه انجام شده است. با توجه به اینکه آژانس بین المللی تحقیق بر روی سرطان، ۵۵٪ از سرطان های معده را به این باکتری نسبت می دهد (۶). بدین دلیل هلیکوباکتریلوری را در کلاس یک کارسینوزن های معده قرار می دهند (۷).

مواد و روش ها

با توجه به هدف اصلی این مطالعه، تحقیق ما از نوع توصیفی تحلیلی Diagnostic- testing study بود. جامعه مورد مطالعه بیماران دارای دیس پپسیا یا مشکوک به داشتن دئودنال اولسرا یا آدنوکارسینوما از نظر بالینی بود که به بخش آندوسکوپی بیماران الزهرا مراجعه کردند. نمونه گیری توسط پنس مخصوص از کانال آندوسکوپ صورت گرفت. در مورد بیمارانی که کانسر معده از نظر نمای آندوسکوپی داشتند یا دارای زخم معده بودند، حداقل ۶ نمونه از محل توده یا حاشیه زخم گرفته شد. بیماران مبتلا به کانسر معده پس از تأیید پاتولوژی وارد مطالعه شدند. در مورد کلیه بیماران از ناحیه incisura یا prepyloric، جهت کشت برای هلیکوباکتریلوری گرفته شد. در صورت گرفتاری این نواحی توسط توده تومورال ناشی از کانسر معده بیوپسی از نواحی دیگر معده گرفته شد و معیارهای ورود به مطالعه، بیماران دارای نمای بالینی ضایعات زیر بود:

- ۱- کانسر (CA): بیماران با آدنوکارسینوم معده که قبلاً تحت درمان (شیمیوتراپی) قرار نگرفته بودند. کانسر این افراد از طریق پاتولوژی ثابت شد.

هلیکوباکتریلوری ارگانسیم گرم منفی و میکروآئروفیلیک است. این باکتری می تواند بطور جالبی موکوس معده را برای دهها سال، علیرغم پاسخ های ایمن و اکتسابی و التهابی و نیز جایگزینی پیوسته (turn over) اپیتلیال معده آلوده نماید (۱). هلیکوباکتریلوری عامل مهم زخم معده است و بعنوان ریسک فاکتوری برای ابتلا به سرطان معده محسوب می شود (۲). شیوع عفونت در جهان بالاست. بطوریکه حدود ۸۰٪ افراد ۴۰-۵۰ ساله در ژاپن (۳) و بطوری کلی نیمی از جمعیت جهان به این باکتری آلوده اند (۲). گرچه تنها در تعداد معدودی از افراد فوق، زخم معده بروز می کند، بیماریزایی هلیکوباکتریلوری به طور کامل شناخته نشده است. ولی فاکتورها و ویرولانس مهم در این باکتری یافت شده است که به نظر می رسد با وخیم شدن زخمهای موکوس معده در رابطه باشد (۳). یکی از این فاکتورهای بیماریزایی، سیتوتوکسین و اکوتلینگ است. این توکسین قادر به القای واکوتلیشن سیتوپلاسمیک در انواع رده های سلولی پستانداران در شرایط in vitro و نیز تخریب سلولهای اپیتلیال و اولسراسیون موکوزال معده موش در موارد تجربی است. این توکسین محصول بیان ژن vac A در هلیکوباکتریلوری است. ژن مزبور تقریباً در تمام سویه های هلیکوباکتریلوری وجود دارد. ولی تنها نیمی از این سویه ها قادر به القاء واکوتلیشن در سلولهای اپیتلیال اند (tox+) (۴). ژنوتیپ های مختلفی از vac A شناخته شده است. این ژن به دو ناحیه signal sequence, mid region تقسیم می شود. ناحیه اول دارای تایپ های S1, S2 و ناحیه دوم دارای تایپ های m1, m2 است. هر یک از سویه های جدا شده تنها می تواند حاوی یکی از انواع تایپ های ناحیه اول و دوم باشد. به عبارت دیگر یکی از چهار حالت ممکن را می تواند دارا باشد. البته مطالعات بیشتر نشان داده است که ناحیه S1 دارای ساب تایپ های S1a, S1b است (۳). مدارک نشان می دهد که تفاوت هایی بین سویه های مناطق جغرافیایی مختلف از نظر این تایپ ها وجود دارد (۲). مطالعات فراوانی در جهت یافتن رابطه بین ژنوتیپ ها و پی آمد نهایی عفونت بعمل آمده است که البته بر حسب موقعیت جغرافیایی متفاوت است (۵).

از جمله عوارضی که به هلیکوباکتریلوری و ژنوتیپ های آن نسبت داده می شود می توان به Duodenal ulcer, Normal gasteritis, Gastric cancer اشاره کرد (۳). شناخت کامل

و رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید بررسی گردید. بر مبنای اندازه باندهای ایجاد شده در مقایسه با مارکر وزن ملکولی ژنوتیپ سویه ها از نظر vac A مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها :

مطالعه انجام شده بر روی سویه های هلیکوباکتر پیلوری حاکی از آن است که چهار ژنوتیپ مختلف $m\gamma s1b$, $m\gamma s1a$, $m1s1b$, $m1s1a$ مربوط به vac A در میان این باکتری ها وجود دارد و قطعه S2 در هیچکدام از موارد فوق مشاهده نشد.

جدول شماره ۲، توزیع فراوانی ژنوتیپ های مختلف vac A را در سویه های جدا شده از نمونه های بیوپسی معده مربوط به بیماری های مختلف (گاستریت، زخم اثنی عشر، آدنوکارسینوما) نشان می دهد. آزمون χ^2 نشان می دهد که بین ژنوتیپ های مختلف vac A و بیماری های یاد شده رابطه ای وجود ندارد. ($P = 0.64$) مطالعه ما نشان می دهد که ژنوتیپ غالب در مورد گاستریت و زخم اثنی عشر $m\gamma s1a$ است در حالیکه در خصوص آدنوکارسینوما $m1s1a$ می باشد. البته همانطور که ذکر شد این اختلاف معنی دار نیست.

بحث

از زمان کشف ارتباط عوارض گوارشی و هلیکوباکتر پیلوری بیش از دو دهه نمی گذرند ولی در این مدت، مطالعات بسیار زیادی در این خصوص انجام گرفته است. برخی از این مطالعات در مورد تعیین فراوانی ژنوتیپ های مختلف بر حسب منطقه جغرافیایی است که می تواند اطلاعات مفیدی را برای تحقیقات بعدی، مخصوصاً ارائه روشهای پیشگیری و درمان ایفا نماید. مطالعه ای که ما انجام دادیم حاکی از آن است که در منطقه اصفهان ناحیه S2 در ژنوم هلیکوباکتر پیلوری ها دیده نمی شود و در مقابل نواحی $m1$, $m2$ از منطقه $mid\ region$, $s1a$ و $s1b$ از ناحیه signal sequence ژنوم هلیکوباکتر پیلوری مشاهده می شود.

مطالعه انجام گرفته توسط van Doorn فراوانی ژنوتیپ های $m\gamma s1b$, $m\gamma s1a$, $m1s1b$, $m1s1a$ را به ترتیب ۳۰، ۲، ۵ و ۵ درصد و فراوانی را ۳۰ درصد نشان می دهد. این مقادیر در مطالعه ما به ترتیب ۲۸، ۲۳، ۲۶ و ۲۳ درصد است که حاکی از تفاوت فراوانی ژنوتیپ های مختلف بر حسب منطقه جغرافیایی است (۸).

مطالعه انجام شده توسط Strobel در آلمان نیز حاکی از آن

۲- دئودنال اولسر (DU): بیماریات با اولسرهای پپتیک، با یک دئودنال لوکولیزیشن بر اساس یافته های آندوسکوپی.

۳- نرمال / گاستریت (NUD): بیماران با معده نرمال یا گاستریت مزمن نان آتروفیلیک یا سوپرفاشیال.

روش نمونه گیری از نوع آسان بود. ۱۰۰ بیماری که دارای کشت مثبت هلیکوباکتر پیلوری بودند به سه گروه تقسیم شدند:

۱- ۴۰ بیمار مبتلا به دئودنال اولسر (DU)

۲- ۴۰ بیمار مبتلا به نرمال / گاستریت (NUD)

۳- ۲۰ بیمار مبتلا به کانسر (CA)

یکی از نمونه های بیوپسی شده جهت انجام تست RUT - rapid urease test به لوله حاوی محیط کشت آورده وارد شد و نتیجه حاصل از روی تغییر رنگ محیط ثبت شد. بیوپسی دیگر در شرایط استریل و به سرعت به محلول نرمال سالین منتقل شد و حداکثر در مدت ۲ ساعت نمونه به آزمایشگاه میکروب شناسی منتقل شد. در شرایط استریل له شده و بر روی محیط کشت اختصاصی هلیکوباکتر پیلوری که حاوی محیط غنی و مکمل (آنتی بیوتیک) و کشت داده شد. شرایط میکروآتروفیلیک با CO_2 ۱۰% به کمک Gaspack برای رشد باکتری فراهم شد. جار مربوطه به انکوباتور منتقل و ۹۶-۴۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد انکوبه شد. کشت خالص تهیه شده و تستهای بیوشیمیایی افتراقی مثل کاتالاز، اکسیداز، اوره آز و نیز رنگ آمیزی گرم انجام شد. باکتری ها در محیط BHI و فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. در اولین مرحله به کمک کیت Pure PCR Template Preparation kit ژنوم باکتری استخراج شد. میزان خلوص DNA استخراج شده به کمک اسپکتروفتومتر اپندورف و میزان جذب نور در ۲۸۰ و ۲۶۰ نانومتر تعیین شد.

پرایمرهای اختصاصی (جدول شماره ۱) برای ژنوتیپ های مختلف vac A یعنی $m1$, $m2$, $s1a$, $s1b$ به کار رفت (۴). سیکل دمایی برای انجام PCR، به این صورت اعمال گردید: دمایی ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، دمایی ۵۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، دمایی ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه برای ۳۵ سیکل. پس از انجام PCR محصول مربوطه توسط آگارز ژل الکتروفورز

مورد فوق (۲۸٪) می باشد. (۱۵)

با توجه به مطالعات ذکر شده می توان نتیجه گرفت که فراوانی ژنوتیپ S۲ در اکثر مطالعات پایین میباشد که مطالعه ما نیز تاییدی برای این موضوع است. سایر ژنوتیپ ها یعنی S۱a, S۱b, m۱ و m۲ نیز در مناطق مختلف دارای تفاوتی قابل توجهی است که نشان از تنوع پراکندگی این ژنوتیپها دارد.

مطالعه Erzincan در سال ۲۰۰۶ در کشور ترکیه نشان میدهد که فراوانی ژنوتیپ های S۱m۲ و S۱m۱ به ترتیب حدود ۴۱٪ و ۴۸٪ می باشد و نیز فراوانی ژنوتیپ S۱a در زمان (اولسر دیسپسیا) دئودنال اولسر و کانسر معده به ترتیب حدود ۶۷، ۹۷، ۸۸ درصد می باشد. (۱۶)

در مطالعه ای که اخیراً توسط Chomvarin در تایلند انجام شده است رابطه معنی داری بین ژنوتیپ های vac A و سایر ژن های ویرولانسی مثل ice, cag A و bab و نوع عارضه ایجاد شده در بیمار یافت نشده است که تایید کننده نتایج مطالعه است. (۱۱)

نتیجه گیری

بر اساس یافته های این مطالعه و بررسی حاصل از مطالعات انجام شده در این زمینه، در یک نگاه کلی می توان دریافت که نوع ژنوتیپ vac A هلیکوباکتریلوری رابطه ای با نوع بیماری آنها ندارد. لذا در بیماران مختلف ممکن است هر کدام از ژنوتیپ های vac A در هلیکوباکتریلوری ایجاد کننده عارضه مشاهده شود.

منابع

- 1- Kersulyte D, Mukhopadhyay AK, Velapatiño B, Su W, Pan Z, Garcia C, et al. Differences in genotypes of *Helicobacter pylori* from different human populations. *J Bacteriol* 2000; 182(11):3210-8.
- 2- Mukhopadhyay AK, Kersulyte D, Jeong JY, Datta S, Ito Y, Chowdhury A, et al. Distinctiveness of genotypes of *Helicobacter pylori* in Calcutta, India. *J Bacteriol* 2000; 182(11):3219-27.
- 3- Maeda S, Ogura K, Yoshida H, Kanai F, Ikenoue T, Kato N, et al. Major virulence factors, VacA and CagA, are commonly positive in *Helicobacter pylori* isolates in Japan. *Gut* 1998; 42(3):338-43.

است که ۹۶٪ سویه های جدا شده در این کشور حاوی ژن S۱، ۴٪ حاوی ژن S۲ و ۵۱٪ سویه ها حاوی ژن m۱ اند (۹). مطالعه دیگری که در آلمان توسط Rai Han انجام شده این مقادیر را ۸۳٪، ۱۶٪ و ۵۱٪ نشان می دهد که نشان از شباهت دو مطالعه انجام گرفته در آلمان است (۱۰).

مطالعه ای که اخیراً (۲۰۰۷) در تایلند انجام گرفته است فراوانی ژنوتیپ های S۱ و S۲ را به ترتیب ۱۰۰٪ و ۰٪ نشان می دهد که مطابق با مطالعه انجام شده در شهر اصفهان است. (۱۱)

مطالعات انجام گرفته حاکی از آن است که سایتوتوکسین مرتبط با vac A در هلیکوباکتریلوری نیز همانند سایر فاکتور های باکتریال و کد شونده توسط نواحی Cag PAI, AIP, oiP, Sab, Bab در بیماریزائی هلیکوباکتریلوری دخالت دارد. (۱۲)

در مطالعه ای که اخیراً توسط Con در کاستاریکا انجام گرفته است فراوانی ژنوتیپ S۱b ۷۵٫۲٪ و فراوانی ژنوتیپ m۱ ۷۴٫۲٪ گزارش شده است. در این مطالعه همچنین رابطه معنی داری بین ژنوتیپ m۱ و گاستریت مشاهده شده است. در مطالعه ای که انجام دادیم فراوانی ژنوتیپ S۱b و m۱ در گاستریت هر کدام ۴۵٪ به دست آمد که به نسبت مطالعه فوق در صد کمتری را تشکیل می دهد. ولی بر خلاف مطالعه فوق رابطه معنی داری بین ژنوتیپ m۱ و گاستریت مشاهده نشد. (۱۳)

مطالعه ای که Garcia در سال ۲۰۰۶ در کشور شیلی انجام داده است نیز فراوانی ژنوتیپ های S۱a, S۱b, S۲, m۱ و m۲ را به ترتیب حدود ۴۲، ۲۱، ۲۶، ۳۲، و ۴۴ در صد نشان می دهد. البته نمونه گیری در این مطالعه بر اساس نوع عارضه ایجاد شده انجام نشده است. در مطالعه ما این مقادیر به ترتیب ۵۴، ۴۶، ۰، ۵۱ و ۴۹ درصد به دست آمده است. همانطور که مشاهده می شود در مطالعه فوق در صد قابل توجهی (۲۶٪) از نمونه ها دارای ژنوتیپ S۲ هستند ولی در مطالعه ما این ژنوتیپ یافت نشد. (۱۴)

در مطالعه ای که linpisarn در سال ۲۰۰۷ در تایلند بروی ۵۸ مورد گاستریت، ۲۸ مورد گاستریت اولسر، ۴۵ مورد دئودنال اولسر و ۴ مورد کانسر معده انجام داده است فراوانی ژنوتیپ S۱a، ۸۱٪ و فراوانی ژنوتیپ S۱a/m۱ نیز ۲۱٪ گزارش شده است. فراوانی ژنوتیپ S۱a در مطالعه ما به نسبت پایین تر از این مقدار ولی فراوانی ژنوتیپ S۱a/m۱ بسیار شبیه

- 4- Atherton JC, Cao P, Peek RM Jr, Tummuru MK, Blaser MJ, Cover TL. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. Association of specific vacA types with cytotoxin production and peptic ulceration. *J Biol Chem* 1995; 270(30):17771-7.
- 5- Gunn MC, Stephens JC, Stewart JA, Rathbone BJ, West KP. The significance of cagA and vacA subtypes of *Helicobacter pylori* in the pathogenesis of inflammation and peptic ulceration. *J Clin Pathol* 1998; 51(10):761-4.
- 6- Fazeli A, Nafisi M, Evaluation of diagnosis from h.pilory by whole- cell ELISA and HM-cap ELISA methods. *feiz journal of Kashan University of Medical sciences*. 2002, 3(12):30-38.
- 7- Vaira D, Malfertheiner P, Mégraud F, Axon AT, Deltenre M, Hirschl AM, et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection with a new non-invasive antigen-based assay. HpSA European study group. *Lancet* 1999; 354(9172):30-3.
- 8- Van Doorn LJ, Figueiredo C, Sanna R, Plaisier A, Schneeberger P, de Boer W, et al. Clinical relevance of the cagA, vacA, and iceA status of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* 1998 ; 115(1):58-66.
- 9- Strobel S, Bereswill S, Balig P, Allgaier P, Sonntag HG, Kist M. Identification and analysis of a new vacA genotype variant of *Helicobacter pylori* in different patient groups in Germany. *J Clin Microbiol* 1998; 36(5):1285-9.
- 10- Han SR, Schreiber HJ, Bhakdi S, Loos M, Maeurer MJ. VacA genotypes and genetic diversity in clinical isolates of *Helicobacter pylori*. *Clin Diagn Lab Immunol* 1998; 5(2):139-45.
- 11- Chomvarin C, Namwat W, Chaicumpar K, Mairiang P, Sangchan A, Sriipa B, et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* vacA, cagA, cagE, iceA and babA2 genotypes in Thai dyspeptic patients. *Int J Infect Dis* 2008; 12(1):30-6.
- 12- Maeda S, Mentis AF. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2007; 12 Suppl 1: 10-4.
- 13- Con SA, Takeuchi H, Valerín AL, Con-Wong R, Con-Chin GR, Con-Chin VG, et al. Diversity of *Helicobacter pylori* cagA and vacA genes in Costa Rica: its relationship with atrophic gastritis and gastric cancer. *Helicobacter* 2007; 21 (5):547-52.
- 14- García A, Barra R, Delgado C, Kawaguchi F, Trabal N, Montenegro S, et al. Genotyping of clinical isolates of *Helicobacter pylori* by cagA, vacA and babA2 virulence associated genes. First detection of a babA2 positive strain in Chilean patients. *Rev Med Chil* 2006; 134(8):981-8.
- 15- Linpisarn S, Suwan W, Lertprasertsuk N, Koosirirat C, Steger HF, Prommuangyong K, et al. *Helicobacter pylori* cagA, vacA and iceA genotypes in northern Thai patients with gastric disease. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2007; 38(2):356-62.
- 16- Erzin Y, Koksall V, Altun S, Dobrucali A, Aslan M, Erdamar S, et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* vacA, cagA, cagE, iceA, babA2 genotypes and correlation with clinical outcome in Turkish patients with dyspepsia. *Helicobacter* 2006; 11(6):574-80.

جدول ۱: پرایمرهای آلل های *VAC a* هلیکوباکتر پیلوری

Region amplified	Primer designation	Primer sequence	Size and location of PCR product
m1:	VA3- F	5' GGTCAAAATGCGGTCATGG 3'	290 bp
	VA3- R	5' CCATTGGTACCTGTAGAAAC 3'	
m2:	VA4- F	5' GGAGCCCCAGGAAACATTG 3'	352 bp
	VA4- R	5' CATAACTAGCGCCTTGCAC 3'	
s1a:	SS1- F	5' GTCAGCATCACACCGCAAC 3'	190 bp
	VA1-R	5' CTGCTTGAATGCGCCAAAC 3'	
s1b:	SS3-F	5' AGCGCCATACCGCAAGAG 3'	187 bp
	VA1-R	5' CTGCTTGAATGCGCCAAAC 3'	
s2:	SS2- F	5' GCTAACACGCCAAATGATCC 3'	199 bp
	VA1-R	5' CTGCTTGAATGCGCCAAAC 3'	

جدول ۲- توزیع فراوانی ژنوتیپ های مختلف *vac A* در هلیکوباکتر پیلوری های جدا شده از نمونه های معده

بیماریها ژنوتیپ ها	گاستریت		زخم اثنی عشر		آدنوکارسینوما		حالت کلی	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
M1s1a	۱۰	۲۵	۱۱	۲۷/۵	۷	۳۵	۲۸	۲۸
M1s1b	۸	۲۰	۱۰	۲۵	۵	۲۵	۲۳	۲۳
M2s1a	۱۲	۳۰	۱۲	۳۰	۲	۱۰	۲۶	۲۶
M2s1b	۱۰	۲۵	۷	۱۷/۵	۶	۳۰	۲۳	۲۳
جمع	۴۰	۱۰۰	۴۰	۱۰۰	۲۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

Study of vac A genotypes of H.pylori isolated from patients with the upper gastrointestinal diseases by PCR

Seyed Asghar Havaei ¹- Rasool Salehi ²- Seyed Ali Fazeli ¹- Hamid Tavakoli ³- Parviz Mohajeri ⁴

1. Dept. of Microbiology, School of Medicin, Isfahan Unive of Med. Sciences

2. Dept. of Cell Biology, School of Medicin, Isfahan Unive of Med. Sciences

3. School of Medicin, Isfahan Unive of Med. Sciences

4. School of Medicin, Kerman Shah , Unive of Med. Sciences

Abstract

Introduction:

Helicobacter pylori is a gram negative curved bacilli which is colonized in the human stomach. It causes duodenal ulcer, gastritis and is associated with adenocarinoma. There might be a possible relationship between cagA, vacA and ice a genes and clinical outcomes. The aim of this study was to identify the frequency od vacA genotypes of H.pylori isolated from the upper gastrointestinal.

Methods:

In tis study, 100 H. pylori strains were isolated from patients with different gastrointestinal disease in Azahra hospital. Vac A alleles were typed using PCR with specific primers.

Finding:

There were four Vac A mosaicsms, including 28 for s1a/ m1 (28%), 23 for s1b/m1 (23%), 26 for s1a/m2 (26%) and 23 for s1b/m2 (23%), s2 form was not found.

Conclusion:

The results showed there is no significant relationship between fiffereent genotypes of vacA and the related diseases.

Key words: Helicobacter pylori- vac A- Adenocarinoma. - Duodenal ulcer- Normal /Gastritis - PCR